Besvarelse af opgave om Vital Capacity

I filen `'cadmium.txt'` ligger observationer fra et eksempel omhandlende lungefunktionen hos arbejdere i cadmium industrien (hentet fra P. Armitage & G. Berry: Statistical methods in medical research. 2nd ed. Blackwell, 1987).

Datsættet består af sammenhørende værdier af alder og vital capacity (liter) for 3 grupper af personer, fordelt således:

- Gruppe 1: Eksponeret for cadmium i mere end 10 år ($n = 12$)
- Gruppe 2: Eksponeret for cadmium i mindre end 10 år ($n = 28$)
- Gruppe 3: Ikke eksponeret for cadmium ($n = 44$)

Den første linie i data indeholder variabelnavnene `grp`, `age` og `vitcap`.

1. *Konstruer en faktor (klassevariabel) med beskrivende navne til de 3 grupper, f.eks.* `expo>10`*,* `expo<10` *og* `no-expo`.

   Vi indlæser og laver samtidig en ny variabel, kaldet `group`, med de foreslåede navne

```
FILENAME navn URL
   "http://staff.pubhealth.ku.dk/~lts/basal/data/cadmium.txt";

data cadmium;
infile navn firstobs=2;
input grp age vitcap;

if grp=1 then group='1:expo>10';
if grp=2 then group='2:expo<10';
if grp=3 then group='3:no-expo';
run;
```

2. *Beskriv fordelingen af vital capacity i de 3 grupper ved hjælp af passende valgte summary statistics. Lav også passende plots.*

   For at udregne summary statistics, skriver vi

```
proc means data=cadmium;
  class group;
  var age vitcap;
run;
```

hvorved output bliver:

```
The MEANS Procedure
```

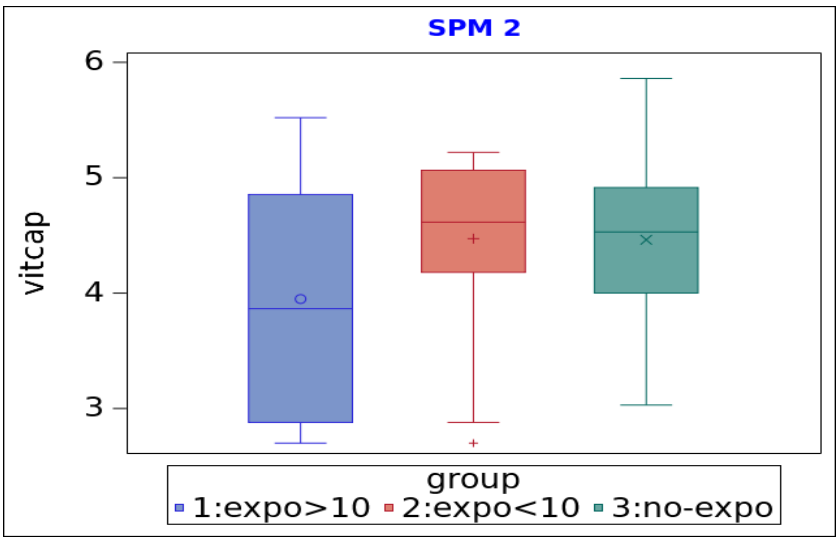
group	N Obs	Variable	N	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
1:expo>10	12	age	12	49.7500000	9.1066908	39.0000000	65.0000000
		vitcap	12	3.9491667	1.0330578	2.7000000	5.5200000
2:expo<10	28	age	28	37.7857143	9.1948341	21.0000000	58.0000000
		vitcap	28	4.4717857	0.6817084	2.7000000	5.2200000
3:no-expo	44	age	44	39.7954545	12.0049981	18.0000000	65.0000000
		vitcap	44	4.4620455	0.6922615	3.0300000	5.8600000

Bemærk, at personer i den langtidseksponerede gruppe generelt er ældre (hvilket ikke er så sært), og at de ueksponerede har en noget større aldersvariation. Lungefunktionen ser (ikke overraskende) ud til at være dårligst blandt de langtidseksponerede.

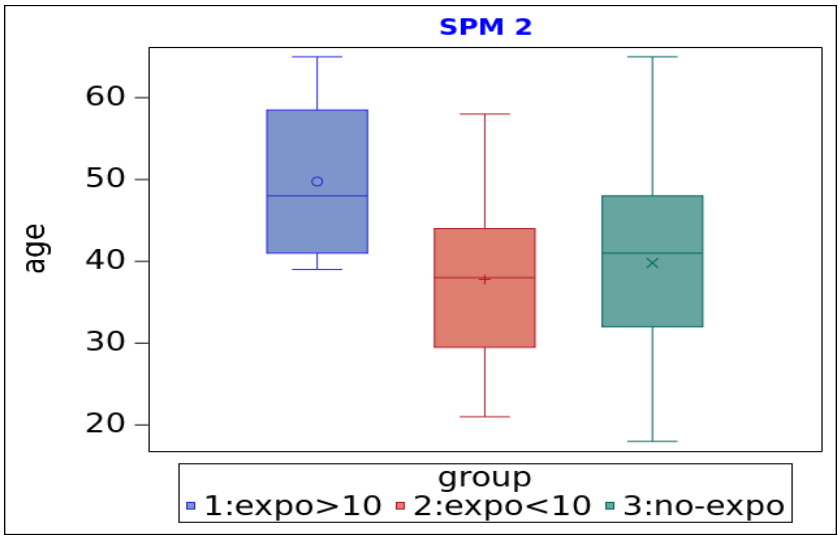
En grafisk illustration kunne være boxplots, som vi får ved at skrive:

```
proc sgplot data=cadmium;
vbox vitcap / group=group;
run;

proc sgplot data=cadmium;
vbox age / group=group;
run;
```

hvorved vi får, først for vitalkapaciteten



og så for alderen:



Ser der umiddelbart ud til at være forskel på grupperne?

Baseret på såvel gennemsnit som boxplots, ser det ud til, at de langtidseksponerede har en lavere vitalkapacitet end de to øvrige grupper. Men

de er også ældre, og en del af årsagen til den lavere vitalkapacitet hos de langtidseksponerede kunne være deres højere alder.

Vi må altså forvente **confounding** mellem `group` og `age`, idet aldersfordelingerne ikke er ens, og der samtidig forventes en nedgang i vitalkapacitet med alderen.

3. *Ignorer i første omgang* `age`*-variablen.*
   Er der forskel på vital capacity i de 3 grupper?

   Baseret på Boxplottene af vitalkapaciteten ovenfor, tør vi godt kaste os ud i en ensidet variansanalyse til at sammenligne grupperne:

```
proc glm data=cadmium;
  class group;
  model vitcap=group / solution clparm;
run;
```

Dette producerer outputtet

```
The GLM Procedure

              Class Level Information

Class         Levels    Values
group              3    1:expo>10 2:expo<10 3:no-expo

Number of Observations Read          84
Number of Observations Used          84

Dependent Variable: vitcap

                                   Sum of
Source                     DF       Squares   Mean Square  F Value  Pr > F
Model                       2    2.74733766    1.37366883     2.48  0.0902
Error                      81   44.89361829    0.55424220
Corrected Total            83   47.64095595

R-Square     Coeff Var      Root MSE    vitcap Mean
0.057668      16.95060      0.744474       4.392024

Source                     DF   Type III SS   Mean Square  F Value  Pr > F
group                       2    2.74733766    1.37366883     2.48  0.0902

                                          Standard
```

```
Parameter                    Estimate           Error   t Value   Pr > |t|
Intercept                4.462045455 B     0.11223375     39.76     <.0001
group      1:expo>10    -0.512878788 B     0.24245260     -2.12     0.0375
group      2:expo<10     0.009740260 B     0.17997438      0.05     0.9570
group      3:no-expo     0.000000000 B      .               .        .

NOTE: The X'X matrix has been found to be singular, and a generalized
      inverse was used to solve the normal equations.  Terms whose
      estimates are followed by the letter 'B' are not uniquely estimable.

Parameter                 95% Confidence Limits

Intercept                4.238735506  4.685355403
group      1:expo>10    -0.995283412 -0.030474163
group      2:expo<10    -0.348352306  0.367832825
group      3:no-expo      .            .
```

Det fremgår at der ikke er signifikant forskel på grupperne (på 5% signifikansniveau) i denne analyse, idet F-testets P-værdi på 0.092 ikke er under 0.05.
Repetition: Variation *mellem* grupper er linjen mærket `Model` (2 frihedsgrader), variation *indenfor* grupper er `Error` (81 frihedsgrader). Der er en større MS mellem grupper end indenfor grupper, men altså ikke nok til at det er signifikant.

Giv et estimat for forskellen i vital capacity på de langtidseksponerede og de ueksponerede, naturligvis med konfidensgrænser.

Da gruppen af ueksponerede (`no-expo`) er sidst i alfabetet, er denne gjort til referencegruppe, og den søgte forskel står derfor direkte at aflæse som -0.513 (-0.995, -0.030) liter, dvs. at de langtidseksponerede har godt en halv liters lavere vitalkapacitet end de ueksponerede (med et konfidensinterval, der går fra ca. 0 til ca. 1 liter, altså ganske upræcist).

Nu er der spurgt specifikt om denne forskel, men ellers skulle vi have korrigeret for massesignifikans. Dette kan gøres med en `lsmeans`-sætning, hvor vi beder om konfidensintervaller svarende til de Tukey-korrigerede T-tests.

Samtidig checker vi også varianshomogeniteten med et Levenes test (`hovetest=levene` i en `means`-sætning), samt foretager et Welch-test, som er den form for ensidet ANOVA, man bør benytte i tilfælde af

varians**in**homogenitet.

Samlet ser det således ud:

```
proc glm data=cadmium;
  class group;
  model vitcap=group / solution;
lsmeans group / adjust=tukey cl pdiff;
means group / hovtest=levene welch;
run;
```

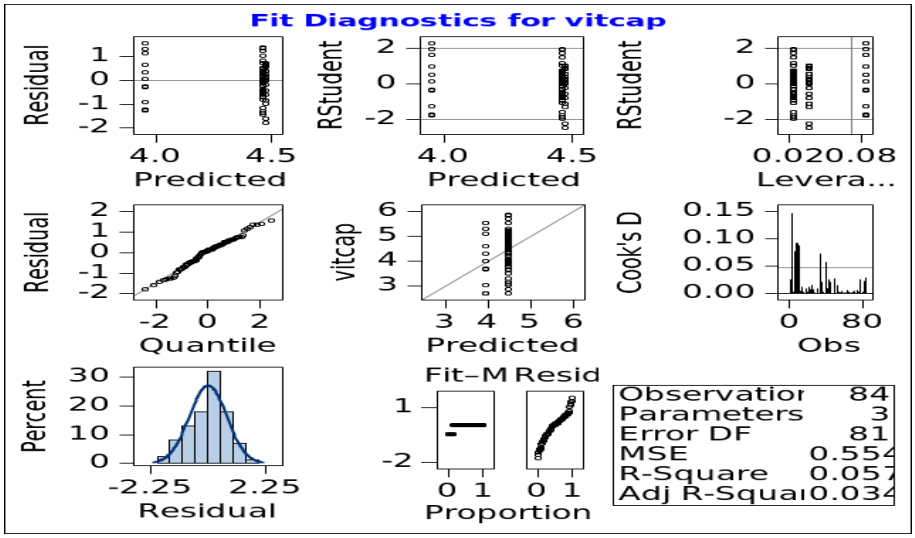
og de Tukey-korrigerede sammenligninger falder således ud:

```
The GLM Procedure
Least Squares Means
Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey-Kramer

                    vitcap      LSMEAN
group               LSMEAN      Number
1:expo>10      3.94916667           1
2:expo<10      4.47178571           2
3:no-expo      4.46204545           3


     Least Squares Means for effect group
     Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

          Dependent Variable: vitcap

i/j             1            2            3
   1                     0.1105       0.0930
   2       0.1105                     0.9984
   3       0.0930       0.9984


        Least Squares Means for Effect group

             Difference         Simultaneous 95%
                Between      Confidence Limits for
i    j           Means       LSMean(i)-LSMean(j)
1    2       -0.522619       -1.135904     0.090666
1    3       -0.512879       -1.091746     0.065988
2    3        0.009740       -0.419957     0.439438
```

Alle konfidensintervallerne for de parvise differenser ses at indeholde 0, i overensstemmelse med, at der ikke overordnet set er signifikant forskel på de tre grupper (men dette kan man ikke være sikker på).

Den søgte forskel giver naturligvis samme estimat som før, nemlig -0.513, men nu med konfidensintervallet (-1.092, 0.066), altså noget bredere end før, fordi vi nu har korrigeret for 3 sammenligninger.

Modelkontrollen giver billedet



og vi ser en virkelig pæn normalfordeling i residualerne, men muligvis en form for omvendt trompet i figuren af residualer mod forventede værdier. Dette skyldes, at de langtids-eksponerede har en noget større spredning end de to andre grupper, samtidig med, at de har et *lavere* niveau.

Output fra Levenes test og Welch test giver

```
The GLM Procedure

      Levene's Test for Homogeneity of vitcap Variance
        ANOVA of Squared Deviations from Group Means

                        Sum of          Mean
Source          DF     Squares        Square    F Value    Pr > F

group            2      2.7647        1.3824       2.97    0.0571
Error           81     37.7358        0.4659
```

```
      Welch's ANOVA for vitcap

Source          DF    F Value    Pr > F

group       2.0000       1.37    0.2721
Error      27.2030
```

og vi bemærker, at vi er lige på kanten af en signifikant forskel på spredningerne i de 3 grupper, men at Welch-testet giver en højere P-værdi end den sædvanlige ANOVA og dermed bekræfter konklusionen om "ingen forskel".

Hvis det havde været normalfordelingsantagelsen, vi havde haft problemer med, kunne vi have udført en non-parametrisk sammenligning ved at skrive:

```
proc npar1way wilcoxon data=cadmium;
  class group;
  var vitcap;
run;
```

hvorved man får outputtet:

```
The NPAR1WAY Procedure

             Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable vitcap
                     Classified by Variable group

                          Sum of      Expected       Std Dev          Mean
group           N        Scores      Under H0      Under H0         Score
-------------------------------------------------------------------------
1:expo>10      12        382.50         510.0     78.219339     31.875000
2:expo<10      28       1276.50        1190.0    105.373232     45.589286
3:no-expo      44       1911.00        1870.0    111.638401     43.431818

                  Average scores were used for ties.

   Kruskal-Wallis Test

Chi-Square         2.7909
DF                      2
Pr > Chi-Square    0.2477
```

Heller ikke her finder vi altså nogen signifikans. Hvis man ser på gennemsnit, henholdsvis "mean rank", så kunne det godt se ud som om at gruppe 1 ligger lidt lavere, men det drukner i den store variation (som må formodes i høj grad at skyldes aldersvariationen, idet vitalkapaciteten må forventes at aftage kraftigt med alderen).

4. *Udregn korrelationen mellem alder og vital capacity for hver gruppe for sig, samt for datamaterialet som helhed.*
   Hvad kan vi slutte af dette?

   Vi tager det lige i omvendt rækkefølge. Først udregner vi korrelationen for hele populationen samlet, og vi benytter Pearson-korrelation for at kunne sammenligne til det næste spørgsmål:

```
proc corr data=cadmium;
  var age vitcap;
run;
```

   der (bl.a.) giver følgende output:

```
The CORR Procedure
   2  Variables:    age      vitcap

Pearson Correlation Coefficients, N = 84
       Prob > |r| under H0: Rho=0

                  age        vitcap
age           1.00000      -0.60512
                             <.0001

vitcap       -0.60512       1.00000
               <.0001
```

   Vi ser, at der er en negativ korrelation mellem alder og vitalkapacitet (-0.605), og at denne er stærkt signifikant forskellig fra 0 ($P < 0.0001$)

   Nu gør vi så det tilsvarende, bare opdelt på grupper

```
proc sort data=cadmium;  by group;
run;
proc corr data=cadmium;  by group;
  var age vitcap;
run;
```

hvilket giver outputtet:

```
group=1:expo>10

The CORR Procedure
   2  Variables:    age      vitcap

Pearson Correlation Coefficients, N = 12
       Prob > |r| under H0: Rho=0

                 age        vitcap
age          1.00000      -0.75028
                           0.0049

vitcap      -0.75028       1.00000
             0.0049
-------------------------------------------------------------------------
group=2:expo<10

The CORR Procedure
   2  Variables:    age      vitcap

Pearson Correlation Coefficients, N = 28
       Prob > |r| under H0: Rho=0

                 age        vitcap
age          1.00000      -0.62762
                           0.0004

vitcap      -0.62762       1.00000
             0.0004
-------------------------------------------------------------------------
group=3:no-expo

The CORR Procedure
   2  Variables:    age      vitcap
```

```
Pearson Correlation Coefficients, N = 44
       Prob > |r| under H0: Rho=0

                    age         vitcap
age             1.00000      -0.53088
                                0.0002

vitcap         -0.53088       1.00000
                  0.0002
```

Det kan noteres, at korrelationen er mindst i gruppen af ueksponerede og størst i gruppen af langtids-eksponerede. Imidlertid er det svar på et forkert spørgsmål, idet det er mere naturligt at ville vide om regressionslinjen er stejlere i nogle grupper end i andre, fordi hældningen angiver det konkrete fald i vitalkapacitet for hvert år, man bliver ældre.

5. *Foretag for hver af grupperne en lineær regressionsanalyse af vital capacity mod alder. Hvor stærk er sammenhængen i de tre grupper?*

Regressioner for hver gruppe (hvor vi til afveksling benytter `reg`-proceduren) giver:

```
proc reg data=cadmium;  by group;
  model vitcap=age / clb;
run;
```

giver outputtet

```
group=1:expo>10

The REG Procedure
Dependent Variable: vitcap
Number of Observations Used          12

Root MSE              0.71631    R-Square     0.5629
Dependent Mean        3.94917    Adj R-Sq     0.5192
Coeff Var            18.13837

                      Parameter Estimates

                    Parameter       Standard
Variable     DF      Estimate          Error    t Value    Pr > |t|
Intercept     1       8.18344        1.19787       6.83      <.0001
age           1      -0.08511        0.02372      -3.59      0.0049
```

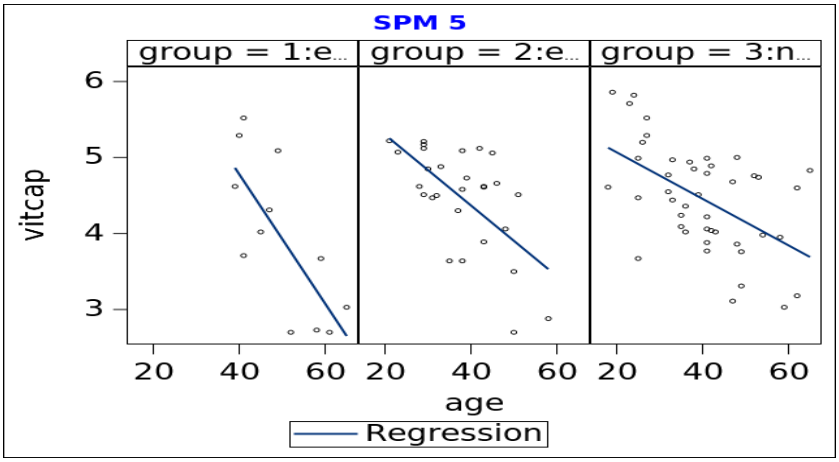
```
Variable     DF       95% Confidence Limits
Intercept     1        5.51442       10.85245
age           1       -0.13795       -0.03227

-------------------------------------------------------------------------
group=2:expo<10

The REG Procedure
Dependent Variable: vitcap

Number of Observations Used          28

Root MSE              0.54083    R-Square     0.3939
Dependent Mean        4.47179    Adj R-Sq     0.3706
Coeff Var            12.09434

                       Parameter Estimates

                    Parameter       Standard
Variable     DF      Estimate          Error    t Value    Pr > |t|
Intercept     1       6.23003        0.43977      14.17      <.0001
age           1      -0.04653        0.01132      -4.11      0.0004

Variable     DF       95% Confidence Limits
Intercept     1        5.32608        7.13399
age           1       -0.06980       -0.02326

-------------------------------------------------------------------------
group=3:no-expo

The REG Procedure
Dependent Variable: vitcap

Number of Observations Used          44

Root MSE              0.59360    R-Square     0.2818
Dependent Mean        4.46205    Adj R-Sq     0.2647
Coeff Var            13.30331

                       Parameter Estimates

                    Parameter       Standard
Variable     DF      Estimate          Error    t Value    Pr > |t|
Intercept     1       5.68029        0.31314      18.14      <.0001
age           1      -0.03061        0.00754      -4.06      0.0002

Variable     DF       95% Confidence Limits
Intercept     1        5.04836        6.31222
age           1       -0.04583       -0.01540
```

Vi noterer os regressionskoefficienterne med tilhørende SE: Henholdsvis -0.085(0.024), -0.047(0.011), og -0.031(0.008). Det kunne godt tyde på at de ikke er helt ens, men at niveauet falder hurtigere i den langtidseksponerede gruppe.

De tilsvarende plots af data med regressionslinier fås ved at skrive

```
proc sgpanel data=cadmium;
panelby group / rows=1 columns=3;
reg Y=vitcap X=age;
run;
```

hvorved vi får figurerne



Her ses tydeligt, at figuren til venstre (svarende til de langtids-eksponerede, selv om man ikke lige kan se det af overskriften) har den stejleste hældning.

6. *Giv et estimat for forskellen i vitalkapacitet mellem 40-årige langtids-eksponerede og 40-årige ueksponerede.*

   Her kunne man give sig til at benytte de ovenstående regressionsanalyser og udregne estimeret vitalkapacitet for 40-årige i hver af de 3 grupper, men vi ville herved komme til at mangle konfidensgrænser for forskellene.

   I stedet må vi bygge de 3 regressioner fra forrige spørgsmål sammen til en stor model, og da der umiddelbart så ud til at være forskel på hældningerne, er vi nødt til at medtage interaktionsleddet `group*age`.

Desuden inkluderer vi `estimate`-sætninger til udregning af forventede værdier for 40-årige i de to nævnte grupper (selv om dette egentlig ikke er nødvendigt, da der ikke spørges om dette) samt en `estimate`-sætning til at finde den forventede forskel på disse.

Totalt skriver vi altså:

```
proc glm data=cadmium;
  class group;
  model vitcap=group age group*age / solution clparm;
estimate "expo>10, 40 years" intercept 1 group 1 0 0 age 40 group*age 40 0 0;
estimate "no-expo, 40 years" intercept 1 group 0 0 1 age 40 group*age 0 0 40;
estimate "expo>10 vs. no, 40 years" group 1 0 -1 group*age 40 0 -40;
run;
```

og vi får outputtet:

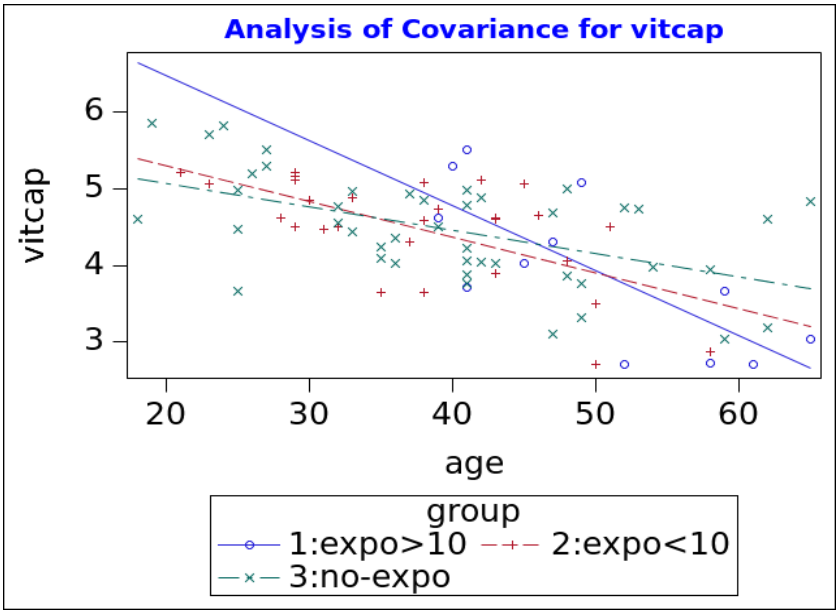
```
The GLM Procedure
Dependent Variable: vitcap

                                 Sum of
Source                     DF       Squares   Mean Square  F Value  Pr > F

Model                       5   20.10574307    4.02114861    11.39  <.0001
Error                      78   27.53521288    0.35301555
Corrected Total            83   47.64095595

R-Square     Coeff Var      Root MSE    vitcap Mean
0.422026      13.52796      0.594151       4.392024

Source                     DF   Type III SS   Mean Square  F Value  Pr > F
group                       2    2.15205767    1.07602883     3.05  0.0531
age                         1   15.52632541   15.52632541    43.98  <.0001
age*group                   2    2.49945795    1.24972898     3.54  0.0338

                                            Standard
Parameter                      Estimate         Error  t Value  Pr > |t|
expo>10, 40 years           4.77899881    0.25730240    18.57    <.0001
no-expo, 40 years           4.45578377    0.08958495    49.74    <.0001
expo>10 vs. no, 40 years    0.32321504    0.27245181     1.19    0.2391

Parameter                    95% Confidence Limits
expo>10, 40 years            4.26674909   5.29124854
no-expo, 40 years            4.27743383   4.63413372
expo>10 vs. no, 40 years    -0.21919484   0.86562492

                                          Standard
Parameter                Estimate           Error   t Value   Pr > |t|
Intercept             5.680290602 B     0.31342603     18.12     <.0001
group     1:expo>10   2.503147783 B     1.04184195      2.40     0.0187
group     2:expo<10   0.549740376 B     0.57588436      0.95     0.3427
```

```
group     3:no-expo     0.000000000 B      .              .        .
age                    -0.030612671 B     0.00754746     -4.06     0.0001
age*group 1:expo>10    -0.054498319 B     0.02106980     -2.59     0.0116
age*group 2:expo<10    -0.015919340 B     0.01454687     -1.09     0.2772
age*group 3:no-expo     0.000000000 B      .              .        .

Parameter                95% Confidence Limits
Intercept                5.056307317  6.304273888
group     1:expo>10      0.428999787  4.577295778
group     2:expo<10     -0.596757322  1.696238074
group     3:no-expo       .            .
age                    -0.045638502 -0.015586840
age*group 1:expo>10    -0.096445068 -0.012551569
age*group 2:expo<10    -0.044879930  0.013041250
age*group 3:no-expo       .            .

NOTE: The X'X matrix has been found to be singular, and a generalized
      inverse was used to solve the normal equations.  Terms whose
      estimates are followed by the letter 'B' are not uniquely estimable.
```

Vi ser, at det søgte estimat bliver 0.323, med konfidensgrænser (-0.219, 0.866) liter, **i de langtids-eksponeredes favør**! Godt nok ikke signifikant (P=0.24), men alligevel....

Hvordan kan man anskueliggøre modellen til grund for dette estimat?

Den model, vi har fittet til data, består af 3 ikke-parallelle linier, som det ses af figuren nedenfor (et biprodukt ved `glm`-analysen), og her ser vi, at linierne svarende til de 3 grupper krydser ind over hinanden, således, at den blå linie hørende til de langtids-eksponerede netop ligger højest for de lave aldre.



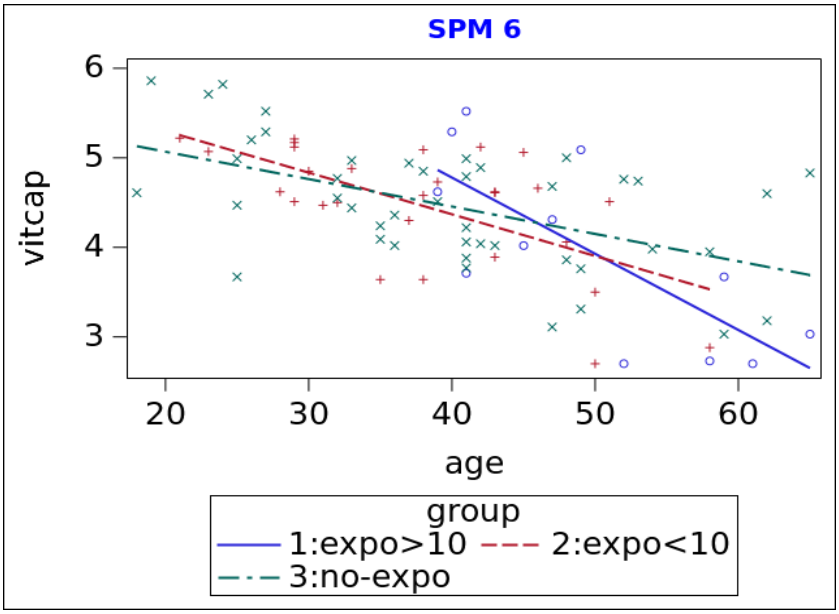
Hvis vi ser tilbage på summary statistics fra spøgsmål 2, kan vi se, at den yngste langtids-eksponerede er 39 år, så det er lidt vovet at udtale sig om ovenstående forskel.

Bemærk i øvrigt det noget misvisende i, at SAS tegner de fittede linier helt ud til kanten af plottet, selv om der ikke er observationer til at understøtte dem i hele området.

En pænere figur fås ved at benytte plotte-proceduren i stedet for

```
proc sgplot data=cadmium;
reg Y=vitcap X=age / group=group;
run;
```

der giver figuren



- *Sammenlign med det i spørgsmål 3 fundne estimat.*

  Vi fandt estimatet for forskellen på 40-årige langtids-eksponerede vs. ueksponerede til at være 0.323, med konfidensgrænser (-0.219, 0.866) liter, mens vi i spørgsmål 3 fandt estimatet -0.513 (-0.995, -0.030) liter, altså to meget forskellige estimater.

  Hvad er der sket?
  I spørgsmål 3 ignorerede vi alderen, så der sammenlignede vi ældre langtids-eksponerede med yngre ueksponerede, og resultatet må derfor have været en blanding effekten af eksposition **og** alder. I dette spørgsmål tager vi hensyn til denne aldersforskel, og **desuden** tillader vi effekten af alder at være forskellig for de tre grupper, som det ses på figuren ovenfor. Forskellen på grupperne vil derfor afhænge af, hvilken alder, vi betragter, og for 40 år er vi lige på kanten af, hvad der overhovedet forekommer i gruppen af langtids-eksponerede.

  Det er derfor ikke et helt rimeligt spørgsmål at stille overhovedet.....

- *Kan sammenhængen mellem alder og vital capacity påvises at være forskellig for de tre grupper?*

  Sammenhængen mellem alder og vital capacity er udtrykt ved hældningen, så ovenstående spørgsmål går på, om de 3 hældninger kan påvises

at være forskellige, altså om der er signifikant **interaktion=vekselvirkning**.

I det ovenstående output ses, at denne interaktion faktisk *er* signifikant med $P = 0.0338$. Det vil sige at regressionskoefficienterne *ikke* kan antages at være ens så linjerne er ikke parallelle. De estimerede parametre giver for `age*group 1` *forskellen* på regressionskoefficienterne i gruppe 1 og gruppe 3, og ved `age*group 2` den tilsvarende forskel fra gruppe 2 til 3. Det ses at den signifikante forskel først og fremmest skyldes at gruppen af langtidseksponerede udviser et hurtigere fald i vitalkapaciteten end de andre to. Det kunne forstås derhen, at cadmium eksponering i længere tid accelererer den aldersbetingede reduktion i vitalkapacitet, snarere end at sænke niveauet med en konstant værdi, faktisk en ret intuitiv forklaring.

Vi kan også udvide programmeringen med `estimate`-sætninger til parvise sammenligninger af de tre hældninger:

```
proc glm data=cadmium;
  classes group;
  model vitcap=group age group*age / solution clparm;
estimate 'slope 1 vs. 2' group*age 1 -1 0;
estimate 'slope 1 vs. 3' group*age 1 0 -1;
estimate 'slope 2 vs. 3' group*age 0 1 -1;
run;
```

der giver ekstra output:

```
                                        Standard
Parameter                 Estimate          Error    t Value    Pr > |t|

slope 1 vs. 2          -0.03857898     0.02327272      -1.66      0.1014
slope 1 vs. 3          -0.05449832     0.02106980      -2.59      0.0116
slope 2 vs. 3          -0.01591934     0.01454687      -1.09      0.2772

Parameter               95% Confidence Limits

slope 1 vs. 2          -0.08491141   0.00775345
slope 1 vs. 3          -0.09644507  -0.01255157
slope 2 vs. 3          -0.04487993   0.01304125
```

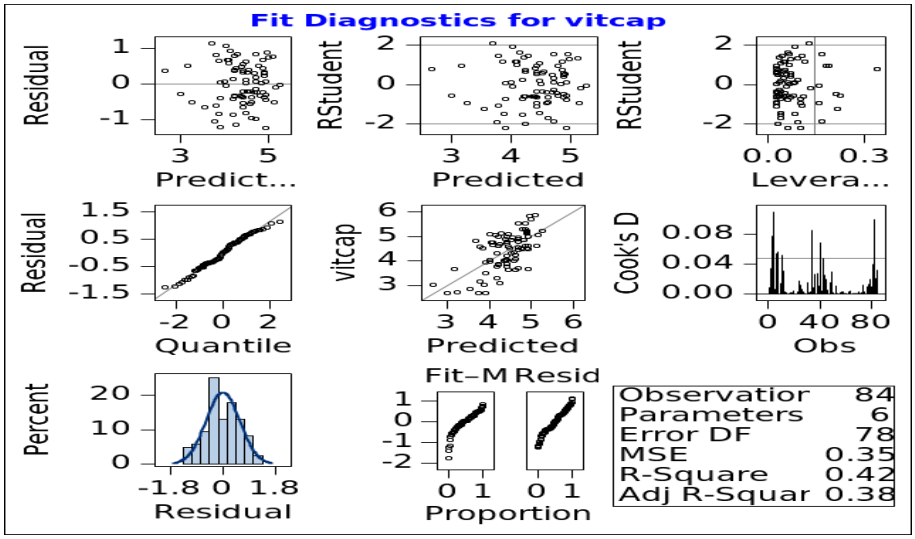
Heraf ses, at det kun er ydergrupperne, der adskiller sig signifikant fra hinanden. P-værdien for denne sammenligning er tilstrækkelig

lille til at "overleve" en Bonferroni-korrektion (gang med 3, da der er 3 sammenligninger).

Men bemærk:
I lyset af den markant ældre population blandt de langtidseksponerede *kunne* et sådant resultat også skyldes, at alderseffekten ikke er lineær, idet faldet i vitalkapacitet evt. accelererede med alderen.

Hvis man inddrager et andengradsled i alder, er der dog ingensomhelst tegn på, at dette giver en forbedret model, så effekten ser virkelig ud til at kunne forklares udfra cadmium eksspositionen.

Og så burde vi jo også lige se på noget modelkontrol, f.eks. de automatiske tegninger:



som faktisk ser ganske tilforladelige ud.

7. *Hvor mange flere år skal der til at tabe 1 liter i vitalkapacitet, når man er ueksponeret i forhold til, hvis man var langtidseksponeret?*

Her skal vi omregne hældningerne fra spørgsmål 5, udregnet for hver gruppe for sig. Hældningerne angiver, hvor mange liter, man mister pr. år, så for at

udregne hvor mange år, der skal gå før man har mistet 1 liter, skal vi bare invertere dem, hvorved vi finder:

For ikke-eksponerede: $\frac{1}{0.03061} = 32.7$,
med 95% konfidensinterval $(\frac{1}{0.04583}, \frac{1}{0.01540}) = (21.8, 64.9)$

For korttids-eksponerede: $\frac{1}{0.04653} = 21.5$,
med 95% konfidensinterval $(\frac{1}{0.06980}, \frac{1}{0.02326}) = (14.3, 43.0)$

For langtids-eksponerede: $\frac{1}{0.08511} = 11.7$,
med 95% konfidensinterval $(\frac{1}{0.13795}, \frac{1}{0.03227}) = (7.2, 31.0)$

Der går altså forventeligt 32.7-11.7=21 år mere, før en ueksponeret mister 1 liter, i forhold til en langtidseksponeret. Det er desværre ikke helt simpelt at finde et konfidensinterval for denne forskel, men vi kan gætte på, at det bliver ganske bredt.

Besvarelse af væksthormon-opgaven

Filen `juul.txt` indeholder en variant af Anders Juuls datamateriale om IGF-I (Insulin-like Growth Factor) hos normale mennesker.

Filen indeholder (i den nævnte rækkefølge):

- `age`: – alder i år
- `height`: – højde i cm
- `sex`: – Køn (1/2=M/F)
- `igf1`: – Serum IGF-I
- `tanner`: – Tanner's pubertetsklassifikation (1–5)
- `weight`: – vægt (kg)

1. *Lav en lineær regressionsanalyse for præpubertale individer (Tanner stadium 1), for hvert køn for sig, og med logaritmetransformeret* `igf1` *som outcome, og alderen som forklarende variabel.*

Nedenfor indlæser vi, idet vi samtidig rekoder kønnet til mere sigende betegnelser og laver et par transformationer, som vi får brug for i de efterfølgende analyser:

```
FILENAME navn URL
    "http://staff.pubhealth.ku.dk/~lts/basal/data/juul.txt";

data juul;
infile navn firstobs=2;
input age height menarche sexnr sigf1 tanner testvol weight;

if sexnr=2 then sex='female';
if sexnr=1 then sex='male';

lnigf1=log(sigf1);
bmi=weight/(height/100)**2;
run;
```

Herefter udfører vi regressionsanalyserne ved hjælp af `proc glm`, for hvert køn for sig, og vi husker at sortere efter `by`-variablen først. Vi benytter desuden et *filter* (`tanner=1`), så vi kun for de relevante observationer med.

Vi bruger her den naturlige logaritme, ikke fordi den er specielt naturlig, men for (endnu en gang) at påpege, at det er ligegyldigt, hvilken logaritme, der anvendes, når blot man husker hvilken. (Husk dog, at der kan være visse fortolkningsmæssige genveje ved at benytte forståelige logaritmer, når det er kovariaterne, der skal transformeres).

Vi inkluderer desuden en `estimate`-sætning til fortolkning af en 5-års ændring:

```
proc sort data=juul; by sex;
run;

proc glm data=juul;  where tanner=1; by sex;
  model lnigf1=age / solution clparm;
estimate "5* slope" age 5;
```

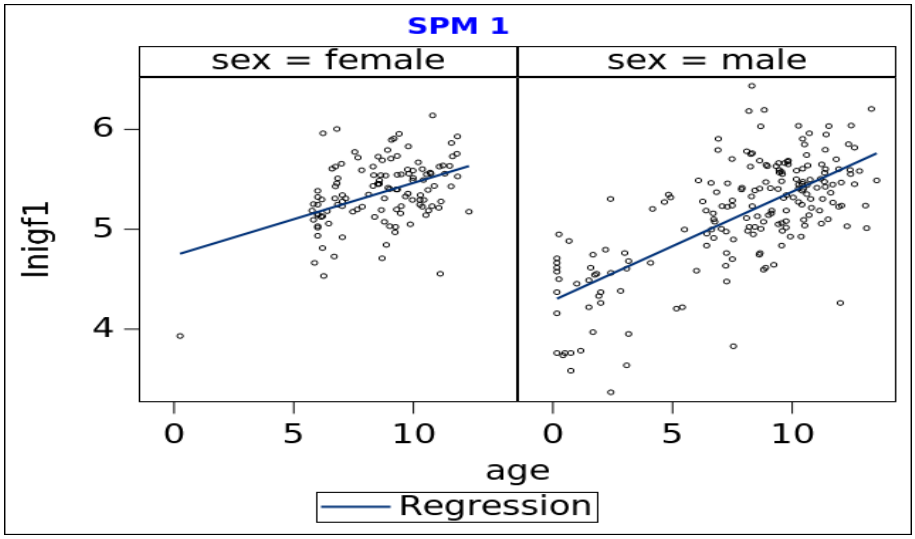
```
run;
```

Vi får herved outputtet

```
sex=female

The GLM Procedure

Number of Observations Read         224
Number of Observations Used         119

R-Square     Coeff Var      Root MSE    lnigf1 Mean
0.183912      5.640660      0.302674       5.365932


                                          Standard
Parameter                   Estimate           Error    t Value    Pr > |t|
5* slope                 0.36358713      0.07080743       5.13      <.0001

Parameter                95% Confidence Limits
5* slope                 0.22335673   0.50381752

                                 Standard
Parameter         Estimate           Error    t Value    Pr > |t|
Intercept      4.736920331      0.12560101      37.71      <.0001
age            0.072717426      0.01416149       5.13      <.0001

Parameter       95% Confidence Limits

Intercept      4.488174112  4.985666549
age            0.044671347  0.100763505

-------------------------------------------------------------------------------

sex=male

The GLM Procedure

Number of Observations Read         291
Number of Observations Used         192

Dependent Variable: lnigf1

R-Square     Coeff Var      Root MSE    lnigf1 Mean
0.483501      7.947495      0.408471       5.139617

                                          Standard
Parameter                   Estimate           Error    t Value    Pr > |t|
5* slope                 0.54485485      0.04085450      13.34      <.0001

Parameter                95% Confidence Limits
5* slope                 0.46426820   0.62544149

                                 Standard
Parameter         Estimate           Error    t Value    Pr > |t|
Intercept      4.286050575      0.07046495      60.83      <.0001
age            0.108970969      0.00817090      13.34      <.0001
```

```
Parameter        95% Confidence Limits
Intercept      4.147056473  4.425044678
age            0.092853639  0.125088299
```

Dvs. for pigerne har vi regressionslinjen $\ln(\texttt{igf1}) = 4.737 + 0.0727 \times \texttt{alder}$ og for drengene $\ln(\texttt{igf1}) = 4.286 + 0.1090 \times \texttt{alder}$, svarende til at serum IGF-1 stiger 7.5% (beregnes som faktoren $\exp(0.0727) = 1.075$) pr. år for pigerne og 11.5% pr år for drengene. (Bemærk, at fordi vi har brugt den naturlige logaritme, så små tal ($< \pm 0.1$) tilbagetransformerer til en relativ forskel af ca. samme størrelse).



Giv en forståelig fortolkning af hældningen i form af den procentuelle øgning af `igf1` *på 5 år.*

Til dette formål havde vi inkluderet en `estimate`-sætning, som bare gangede hældningen op med 5. Det kunne vi selvfølgelig bare have gjort selv, men her var vi dovne. Vi mangler dog stadig at tilbagetransformere til noget forståeligt, fordi vores outcome er transformeret med den naturlige logaritme. Vi tilbagetransformerer derfor med exponentialfunktionen, og finder

For piger: $\exp(0.3636) = 1.44$,
med konfidensinterval $(\exp(0.2234), \exp(0.5038)) = (1.25, 1.65)$

For drenge: $\exp(0.5449) = 1.72$,
med konfidensinterval $(\exp(0.4643), \exp(0.6254)) = (1.59, 1.87)$

På 5 år vil `igf1` således øges med 44% hos piger (CI fra 25-65%) og med 72% hos drenge (CI fra 59-87%).

2. *Undersøg om regressionslinjerne er ens for de to køn, og om der samlet set er en effekt af alder.*

Vi laver en samlet analyse i form af en generel lineær model (`PROC GLM`), og her er det specielt interaktionsleddet, der er interessant.

Vi inkluderer samtidig nogle `estimate`-sætninger, som vi får brug for til at estimere forskellen i 7-års alderen.

```
proc glm plots=(DiagnosticsPanel residuals(smooth)) data=juul;
  where tanner=1;
  class sex;
  model lnigf1=age sex sex*age / solution clparm;
estimate "F, 7 years" intercept 1 sex 1 0 age 7 sex*age 7 0;
estimate "M, 7 years" intercept 1 sex 0 1 age 7 sex*age 0 7;
estimate "M vs F, 7 years" sex -1 1 sex*age -7 7;
run;
```

hvorved vi får outputtet

```
The GLM Procedure

     Class Level Information
Class         Levels    Values
sex                2    female male

Number of Observations Read         515
Number of Observations Used         311

The GLM Procedure
Dependent Variable: lnIGF1

                                  Sum of
Source                     DF       Squares    Mean Square   F Value   Pr > F
Model                       3    35.85425505    11.95141835     86.49   <.0001
Error                     307    42.41974418     0.13817506
Corrected Total           310    78.27399923
```

R-Square	Coeff Var	Root MSE	lnIGf1 Mean
0.458061	7.112589	0.371719	5.226213

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|
F, 7 years	5.24594231	0.04455021	117.75	<.0001
M, 7 years	5.04884736	0.02753224	183.38	<.0001
M vs F, 7 years	-0.19709495	0.05237123	-3.76	0.0002

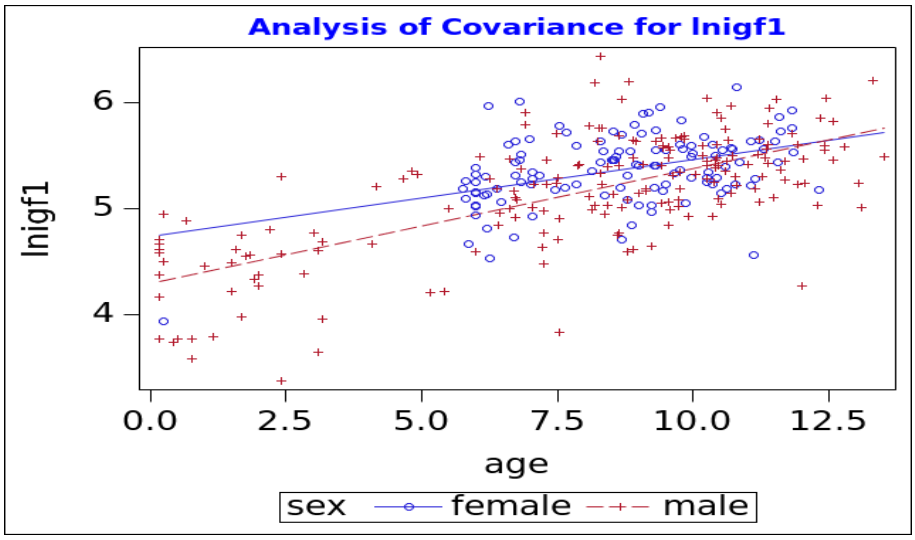
Parameter	95% Confidence Limits	
F, 7 years	5.15827991	5.33360471
M, 7 years	4.99467159	5.10302313
M vs F, 7 years	-0.30014693	-0.09404297

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Age	1	33.89250259	33.89250259	245.29	<.0001
sex	1	1.45414705	1.45414705	10.52	0.0013
Age*sex	1	0.50760541	0.50760541	3.67	0.0562

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Age	1	12.74910506	12.74910506	92.27	<.0001
sex	1	1.00655073	1.00655073	7.28	0.0073
Age*sex	1	0.50760541	0.50760541	3.67	0.0562

Bemærk at interaktionsleddet er meget tæt på signifikans (P=0.06). Det vil sige, at vi ikke med sikkerhed kan afvise, at linjerne er parallelle (har samme hældning), men at der er en vis indikation af forskel på hældningerne.

I de separate figurer ovenfor kan denne forskel være svær at se, så nedenfor ses en fælles figur for de to køn, med indtegnede regressionslinier:



Giv også et estimat for forskellen på drenge og piger i 7-års alderen.

Vi inkluderede nogle `estimate`-sætninger i koden ovenfor, og vi har her specifikt brug for en af disse, nemlig:

```
estimate "M vs F, 7 years" sex -1 1 sex*age -7 7;
```

som gav outputtet

```
                                          Standard
Parameter                  Estimate           Error    t Value    Pr > |t|
M vs F, 7 years          -0.19709495      0.05237123      -3.76      0.0002

Parameter                95% Confidence Limits
M vs F, 7 years          -0.30014693  -0.09404297
```

Vores bedste gæt på forskellen i ln(`igf1`) på drenge og piger i 7-års alderen er altså, at drenge ligger lidt lavere end piger, og vi kvantificerer forskellen ved at tilbagetransformere

$\exp(-0.197) = 0.82$, med CI=$(\exp(-0.300), \exp(-0.094)) = (0.74, 0.91)$, altså at drenge ligger 18% lavere end piger, med konfidensinterval fra 9-26% lavere.

Hvis vi *antager*, at alderseffekten er den samme for de to køn, altså at linierne er parallelle, skal vi se på en model uden interaktionsled:

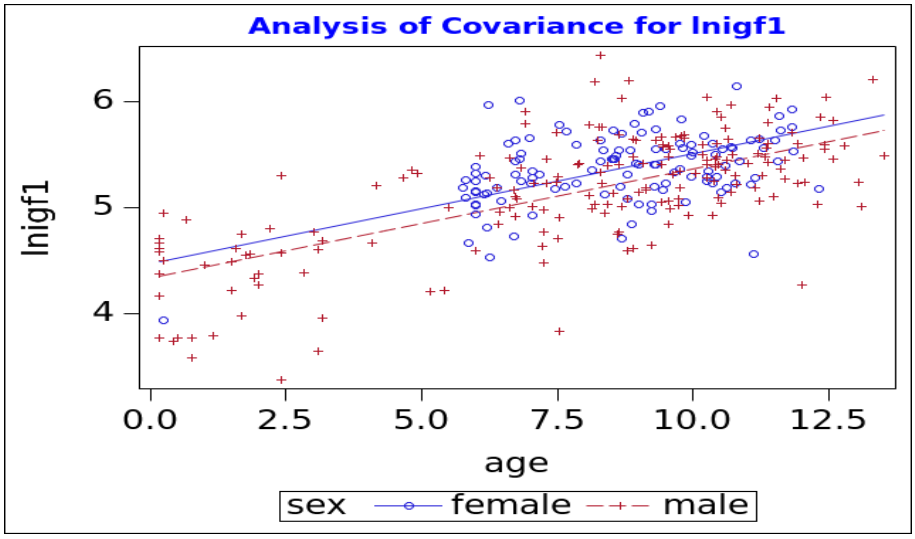
```
PROC GLM DATA=juul;  WHERE tanner=1;
  CLASS sex;
  MODEL lnIGF1=age sex / SOLUTION CLPARM;
RUN;
```

giver outputtet

```
The GLM Procedure

      Class Level Information
Class         Levels    Values
sex                2    female male

Number of Observations Read         515
Number of Observations Used         311

Dependent Variable: lnIGF1

                                    Sum of
Source                     DF       Squares    Mean Square   F Value   Pr > F
Model                       2    35.34664964    17.67332482    126.80   <.0001
Error                     308    42.92734959     0.13937451
Corrected Total           310    78.27399923

R-Square     Coeff Var      Root MSE    lnIGf1 Mean
0.451576      7.143393      0.373329       5.226213

Source                     DF      Type I SS    Mean Square   F Value   Pr > F
Age                         1    33.89250259    33.89250259    243.18   <.0001
sex                         1     1.45414705     1.45414705     10.43   0.0014

Source                     DF    Type III SS    Mean Square   F Value   Pr > F
Age                         1    31.58380727    31.58380727    226.61   <.0001
sex                         1     1.45414705     1.45414705     10.43   0.0014

                                          Standard
Parameter               Estimate             Error    t Value    Pr > |t|
Intercept            4.329935962 B      0.06015726      71.98      <.0001
Age                  0.103368319        0.00686668      15.05      <.0001
sex       female     0.141851570 B      0.04391589       3.23      0.0014
sex       male       0.000000000 B       .                .         .

Parameter             95% Confidence Limits
Intercept            4.211564753  4.448307172
Age                  0.089856777  0.116879860
sex       female     0.055438454  0.228264686
sex       male        .            .
```

hvilket viser en klar kønsforskel og en meget stærk alderseffekt.

Den model, vi har fittet ses på figuren nedenfor:

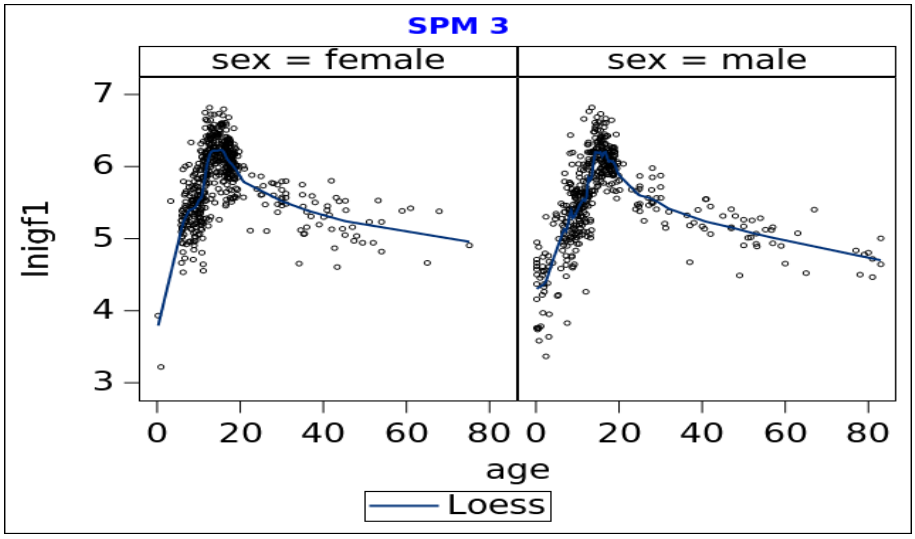


Hvis vi her skal kvantificere forskellen på drenge og piger, behøver vi ikke at sige, hvilken alder, det drejer sig om, da vi nu har antaget, at der er den samme forskel, uanset alder (da linierne jo nu er parallelle). Denne forskel estimeres til

$\exp(-0.142) = 0.87$, med CI=$(\exp(-0.228), \exp(-0.055)) = (0.80, 0.95)$, altså at drenge generelt kun ligger 13% lavere end piger, med konfidensinterval fra 5-20% lavere.

3. *Forklar hvorfor en lineær regression af* $\log($`igf1`$)$ *overfor alder ville være misvisende, hvis man analyserede hele materialet på en gang.*

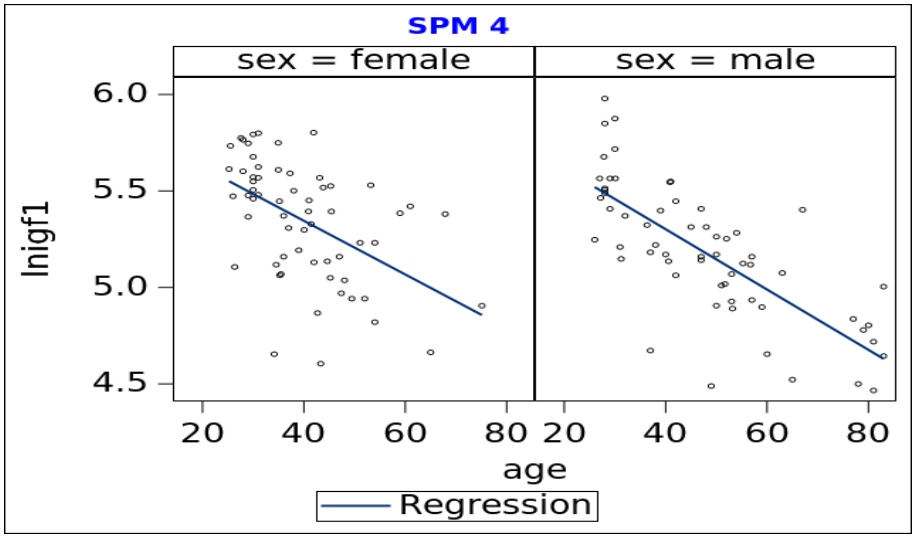
   Her behøver vi sådan set bare en figur, nedenfor opdelt på piger og drenge, og forsynet med en udglattet `loess`-kurve:



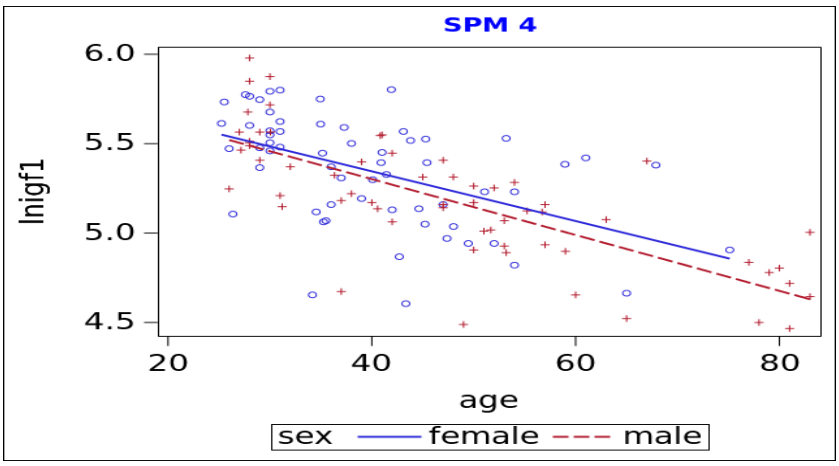
Mønstret ser rimeligt ens ud for de to køn, men er helt klart ikke lineært.

4. *Fokuser nu på de postpubertale* (alder > 25 år) *og estimer det årlige fald i* `igf1`. *Er der forskel på kønnene?*

Først tegner vi kønnene enkeltvis:



og derefter på samme figur, så vi visuelt kan bedømme forskellen på linierne:



Når vi skal udføre analyserne, behøver vi sådan set bare at ændre filteret (`where`-sætningen) og køre de samme analyser. Vi springer de separate analyser over og går direkte til den generelle lineære model:

```
PROC GLM DATA=juul;  WHERE age>25;
  CLASS sex;
  MODEL lnIGF1=age sex sex*age;
run;
```

som giver outputtet

```
The GLM Procedure

      Class Level Information
Class         Levels    Values
sex                2    female male

Number of Observations Read         126
Number of Observations Used         122

Dependent Variable: lnIGf1

                                    Sum of
```

```
Source                     DF        Squares    Mean Square   F Value   Pr > F
Model                       3     6.45004462     2.15001487     33.89   <.0001
Error                     118     7.48556355     0.06343698
Corrected Total           121    13.93560817

R-Square     Coeff Var      Root MSE    lnIGf1 Mean
0.462846      4.784050      0.251867       5.264723

Source                     DF      Type I SS    Mean Square   F Value   Pr > F
Age                         1     6.37061241     6.37061241    100.42   <.0001
sex                         1     0.06407721     0.06407721      1.01   0.3169
Age*sex                     1     0.01535500     0.01535500      0.24   0.6236

Source                     DF    Type III SS    Mean Square   F Value   Pr > F
Age                         1     4.52711640     4.52711640     71.36   <.0001
sex                         1     0.00165941     0.00165941      0.03   0.8718
Age*sex                     1     0.01535500     0.01535500      0.24   0.6236
```

Vekselvirkningsleddet er her klart insignifikant. Så vi fjerner det og får

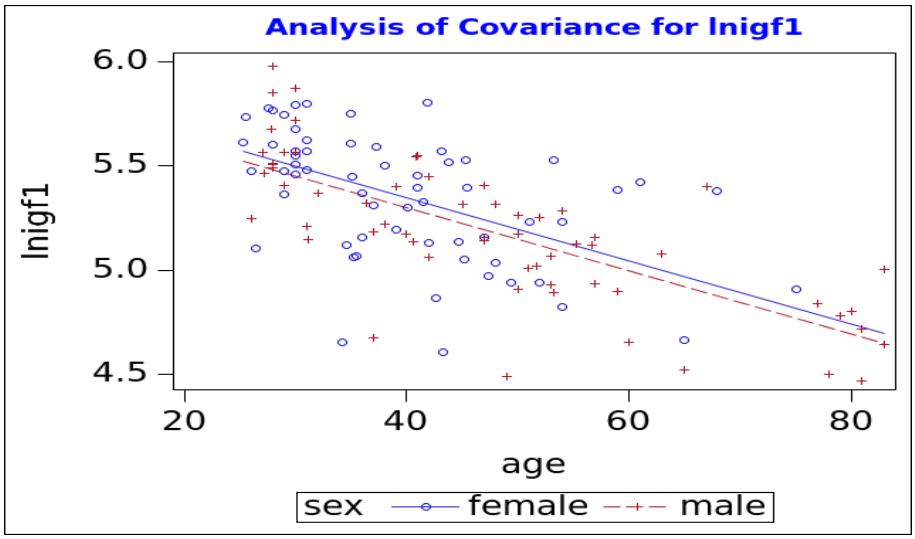
```
PROC GLM DATA=juul;  WHERE age>25;
  CLASS sex;
  MODEL lnIGF1=age sex / SOLUTION CLPARM;
RUN;
```

som giver outputtet

```
The GLM Procedure
Dependent Variable: lnIGF1

                                 Sum of
Source                     DF       Squares   Mean Square  F Value  Pr > F
Model                       2     6.43468962     3.21734481     51.04   <.0001
Error                     119     7.50091855     0.06303293
Corrected Total           121    13.93560817

R-Square     Coeff Var      Root MSE    lnIGf1 Mean
0.461744      4.768790      0.251064       5.264723

Source                     DF      Type I SS    Mean Square   F Value   Pr > F
Age                         1     6.37061241     6.37061241    101.07   <.0001
sex                         1     0.06407721     0.06407721      1.02   0.3154

Source                     DF    Type III SS    Mean Square   F Value   Pr > F
Age                         1     5.59917556     5.59917556     88.83   <.0001
sex                         1     0.06407721     0.06407721      1.02   0.3154

                                        Standard
Parameter               Estimate           Error    t Value    Pr > |t|
Intercept            5.901696915 B      0.08285436      71.23      <.0001
Age                 -0.015103715       0.00160253      -9.42      <.0001
```

```
sex       female      0.047541117 B       0.04715213        1.01       0.3154
sex       male        0.000000000 B        .                 .          .

Parameter                95% Confidence Limits
Intercept              5.737637010  6.065756820
Age                   -0.018276880 -0.011930551
sex       female      -0.045824812  0.140907046
sex       male          .             .
```

Vi ser, at `sex` ikke er signifikant, medens `age` er klart signifikant uanset om `sex` først fjernes fra modellen (Type I SS) eller ej (Type III SS).



Læg mærke til fortegnet! `igf1` stiger med alderen for de små og falder med alderen for de voksne. Hvis man blander dem sammen får man en næsten vandret regressionslinje, som selvfølgelig slet ikke beskriver data. Dette så vi også i figurerne i spørgsmål 3.

Det årlige fald i `igf1` kvantificeres til faktoren $\exp(-0.0151) = 0.9845$, med konfidensinterval $(\exp(-0.0183), \exp(-0.0119)) = (0.9819, 0.9882)$, altså et fald på 1.55% (CI fra 1.18-1.81%).

5. *Udvid modellen fra forrige spørgsmål med en ekstra kovariat, idet* bmi = vægt/højde^2 *inddrages.*

Estimer igen det årlige fald i `igf1`*, og kommenter på forskellen til spørgsmål 4.*

Under indlæsningen udregnede vi `bmi = weight/(height/100)**2`, og vi er derfor klar til at lave en multipel regressionsmodel, hvor vi naturligvis bibeholder de to signifikante kovariater fra før:

```
PROC GLM DATA=juul; WHERE age>25;
  CLASS sex;
  MODEL lnIGF1=age sex bmi / SOLUTION CLPARM;
RUN;
```

```
The GLM Procedure
      Class Level Information

Class         Levels    Values
sex                2    female male

Number of Observations Read         126
Number of Observations Used          36

Dependent Variable: lnIGf1

                                   Sum of
Source                     DF       Squares    Mean Square   F Value   Pr > F
Model                       3     0.33603880     0.11201293      1.23   0.3157
Error                      32     2.91985141     0.09124536
Corrected Total            35     3.25589021


R-Square     Coeff Var      Root MSE    lnIGf1 Mean
0.103210      5.706357      0.302068       5.293543

Source                     DF      Type I SS    Mean Square   F Value   Pr > F
Age                         1     0.29568049     0.29568049      3.24   0.0813
sex                         1     0.00129882     0.00129882      0.01   0.9058
bmi                         1     0.03905949     0.03905949      0.43   0.5176

Source                     DF    Type III SS    Mean Square   F Value   Pr > F
Age                         1     0.30901545     0.30901545      3.39   0.0750
sex                         1     0.00150610     0.00150610      0.02   0.8986
bmi                         1     0.03905949     0.03905949      0.43   0.5176

                                                 Standard
Parameter                Estimate                    Error    t Value    Pr > |t|
Intercept             5.448061928 B          0.41632229      13.09      <.0001
Age                  -0.009215896            0.00500787      -1.84      0.0750
sex       female     -0.015727063 B          0.12241241      -0.13      0.8986
sex       male        0.000000000 B           .                .         .
bmi                   0.011265095            0.01721777       0.65      0.5176
```

```
Parameter              95% Confidence Limits
Intercept             4.600041165  6.296082690
Age                  -0.019416590  0.000984797
sex       female     -0.265072986  0.233618861
sex       male          .             .
bmi                  -0.023806360  0.046336550
```

Det ses at der ikke er noget, der bliver signifikant. Ikke engang alderen ser ud til at have nogen betydning mere.... Hvordan gik det til?

Dette kunne tolkes som et udslag af confounding, altså at der var for tæt en sammenhæng med den nyligt indførte kovariat `bmi` og en eller begge af de to tidligere. Dette er imidlertid *ikke* tilfældet, og forklaringen skal søges et helt andet sted, nemlig i et **stort antal manglende værdier**.

Faktisk indgår der kun 36 observationer i analysen, mod 122 i den fra spørgsmål 4, hvor vi kun så på alder og køn. Vægt og højde er kun registreret på et fåtal af personerne, men mangler for se resterende og må derfor udgå af analyserne. Det er en effekt man skal være på vagt overfor, især når man har mange kovariater.